

**Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
“Уральская государственная медицинская академия”
Министерства здравоохранения и социального развития
Российской Федерации**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Литусов Н.В.

ШИГЕЛЛЫ

Иллюстрированное учебное пособие

Екатеринбург, 2012

УДК 612

Рецензент: доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней УГМА Борзунов В.М.

Литусов Н.В. Шигеллы. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМА, 2012. - 32 с.

В иллюстрированном учебном пособии рассматриваются вопросы истории открытия и изучения шигелл, их морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические, антигенные свойства, факторы патогенности, патогенез дизентерии, клинические симптомы заболевания, профилактика и лечение шигеллезов.

Учебное пособие предназначено для внеаудиторной подготовки студентов, обучающихся по специальностям 060101 (лечебное дело), 060103 (педиатрия), 060105 (медико-профилактическое дело), 060201 (стоматология) и 060301 (фармация).

© Литусов Н.В.

© УГМА, 2012

Содержание

Историческая справка	4
Таксономия и классификация шигелл.....	5
Морфологические и тинкториальные свойства	6
Культуральные и биохимические свойства.....	7
Резистентность.....	10
Антигенная структура.....	11
Факторы патогенности шигелл и патогенез шигеллезов	11
Эпидемиология	14
Клиника	15
Иммунитет.....	16
Диагностика	17
Лечение.....	21
Профилактика	22
Вопросы для контроля усвоения материала	23
Тренировочные тесты	23
Приложение.....	28
Список литературы.....	29

Историческая справка

Шигеллы являются возбудителями шигеллезов (бактериальной дизентерии). Термин “дизентерия” был введен Гиппократом, который разделял все кишечные заболевания на две группы: диарею, сопровождающуюся поносом, и дизентерию, отличающуюся болями в животе (греч. dys - нарушение, расстройство, enteron - кишка).

Впервые возбудителя бактериальной дизентерии описал в 1888 г. французский бактериолог А. Шантемесс (рисунок 1).



Рисунок 1 - А. Шантемесс (Andre Chantemesse, 1851 - 1919 гг.).

В 1891 г. русский судебный медик и микробиолог А.В. Григорьев (1860 - 1916 гг.) высказал предположение о том, что этиологическим агентом бактериальной дизентерии являются неподвижные палочки, которые он обнаружил в кишечнике умерших от этой болезни людей и изучил их морфологические и патогенные свойства.

В 1897 г. японский врач и микробиолог К. Шига (рисунок 2) подробно описал аналогичные бактерии, вызвавшие в Японии эпидемию дизентерии.



Рисунок 2 - Киёси Шига (K. Shiga, 1871 - 1957 гг.).

Выделенные бактерии стали называть палочками Григорьева-Шига. В 1900

г. американский микробиолог С. Флекснер (рисунок 3) выделил дизентерийные бактерии, отличающиеся по свойствам от изученных ранее культур. Впоследствии выделенные им бактерии получили название *S. flexneri*.



Рисунок 3 - Саймон Флекснер (Simon Flexner, 1863 - 1946 гг.).

В 1915 г. датский бактериолог К. Зонне (C. Sonne, 1882 - 1948 гг.) выделил и описал дизентерийные бактерии, получившие название *S. sonnei*.

В 1917 г. немецкий бактериолог К. Шмитц (K. Schmitz) и советский бактериолог М.И. Штуцер выделили дизентерийную палочку, названную бактерией Штуцера-Шмитца. В дальнейшем этот возбудитель был отнесен к *S. dysenteriae*, серовар 2. В эту же группу включили бактерии, выделенные D. Large, A. Sachs и другими авторами.

В 1919 г. А. Кастеллани (A. Castellani) и А. Чалмерс (A.J. Chalmers) возбудителей дизентерии выделили в самостоятельный род и назвали его *Shigella* в честь К. Шига. В настоящее время палочка Григорьева-Шига известна под названием *S. dysenteriae*, серовар 1.

В 1931-1940 гг. J. Boyd описал новые разновидности дизентерийного микроба. Эти бактерии вошли в состав группы *S. boydii*.

Таксономия и классификация шигелл

Шигеллы относятся к порядку *Enterobacteriales*, семейству *Enterobacteriaceae* и роду *Shigella*. Род *Shigella* включает 4 серогруппы:

- серогруппа А включает вид *S. dysenteriae* и объединяет 15 серотипов;
- серогруппа В включает вид *S. flexneri* и объединяет 6 серотипов с подтипами и 2 варианта;
- серогруппа С включает вид *S. boydii* и состоит из 19 серотипов;
- серогруппа D включает вид *S. sonnei* и содержит 1 серотип, подразделяющийся на 7 биохимических вариантов (хемоваров).

Представители серогрупп А, В и С имеют схожие биохимические признаки, а бактерии серогруппы D отличаются от них по биохимическим свойствам. В настоящее время Международная классификация шигелл построена с учетом их

биохимических признаков и особенностей структуры О-антигена (таблица 1).

Таблица 1 - Международная классификация шигелл

Серогруппа	Вид	Серотип	Подтип
A	<i>S. dysenteriae</i>	1-15	-
B	<i>S. flexneri</i>	1	1a
			1b
		2	2a
			2b
		3	3a
			3b
			3c
		4	4a
			4b
		5	5a, 5b
		6	-
		X-вариант	-
		Y-вариант	-
C	<i>S. boydii</i>	1-19	-
D	<i>S. sonnei</i>	-	-

Основное внимание в классификации уделено ферментации маннита и лактозы. Группу А составляют неферментирующие маннит шигеллы, группы В и С – ферментирующие маннит шигеллы, группу D – шигеллы, ферментирующие маннит и медленно разлагающие лактозу.

Морфологические и тинкториальные свойства

Шигеллы представляют собой прямые палочки с закругленными концами размером 0,5-0,7x2-3 мкм (рисунок 4).

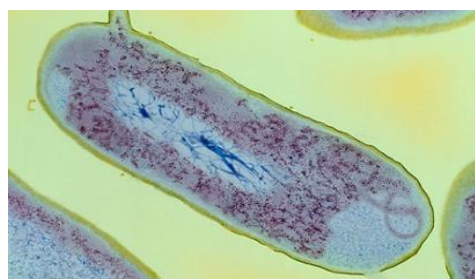
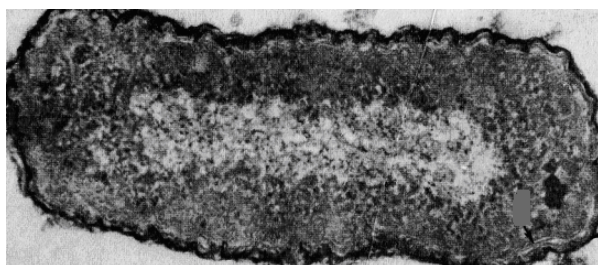


Рисунок 4 - Электронная фотография шигелл и их компьютерная окраска. Видна извилистая клеточная стенка, трехслойная цитоплазматическая мембрана, нуклеоид, рибосомы.

Шигеллы грамотрицательные - окрашиваются в красный цвет при окраске по Граму. Неподвижные (отсутствуют жгутики). Спор и капсул не образуют. Имеют пили. Могут формировать микрокапсулу. В мазках располагаются беспорядочно одиночно (рисунок 5).

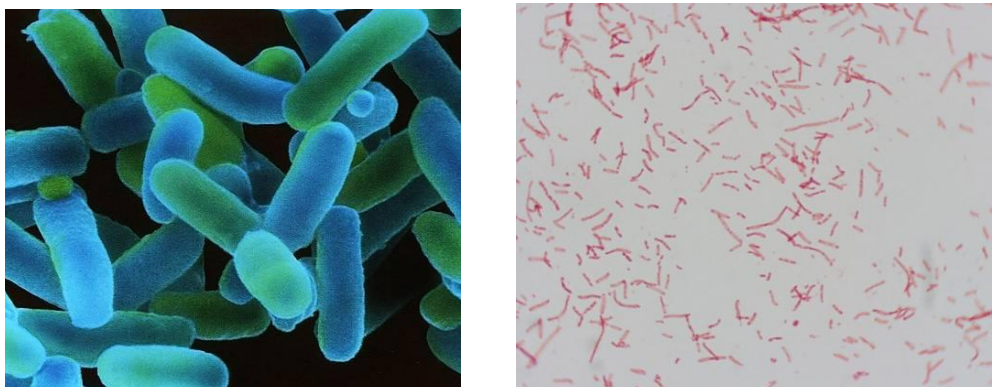


Рисунок 5 - Внешний вид шигелл и окраска клеток по Граму.

Культуральные и биохимические свойства

Шигеллы являются факультативными анаэробами. Оксидазоотрицательные, Каталазоположительные. Они хорошо растут на простых питательных средах. Оптимальная температура роста - 37°C , pH - 6,7-7,4. На плотных средах одни виды шигелл образуют колонии S-формы, а другие виды - колонии R-формы. Колонии S-формы являются мелкими, гладкими, блестящими, полупрозрачными, куполообразными. Колонии R-формы - плоские, тусклые, с шероховатой поверхностью и изрезанными краями (рисунки 6-8).

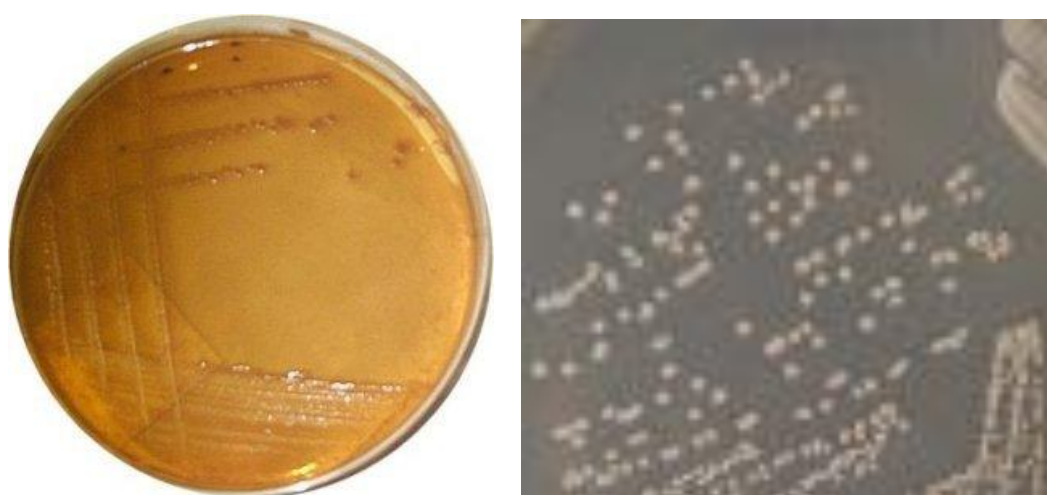


Рисунок 6 - Колонии шигелл S-формы на плотных питательных средах.

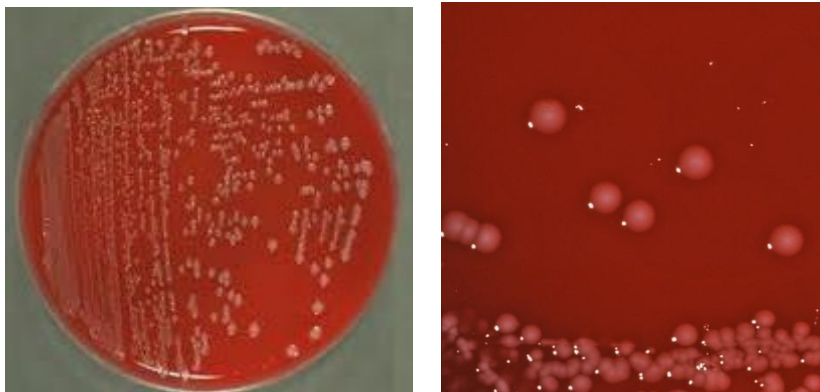


Рисунок 7 - Рост шигелл на кровяном агаре (S-форма).



Рисунок 8 - Колонии шигелл R-формы.

На дифференциально-диагностических средах Эндо, Левина, Плоскирева шигеллы растут в виде бесцветных колоний, так как они не разлагают лактозу (рисунок 9).



Рисунок 9 - Колонии *S. sonnei* на агаре Эндо.

В жидких средах шигеллы дают диффузное помутнение (S-форма) или придонный осадок (R-форма). Жидкой средой обогащения является селенитовый бульон.

Шигеллы обладают слабой биохимической активностью. Для них характерны следующие биохимические особенности:

- ферментация глюкозы с образованием кислоты без газа;
- отсутствие ферментации лактозы;
- отсутствие продукции сероводорода;
- отсутствие гидролиза мочевины (отсутствие уреазы);
- отсутствие утилизации цитрата;
- положительная реакция с метиловым красным.

Желатин не разжижают. На средах Гисса ферментация углеводов приводит к образованию кислоты и изменению цвета среды с желтого на красный. При отсутствии гидролиза мочевины среда не меняет своего исходного желто-оранжевого цвета (рисунок 10).

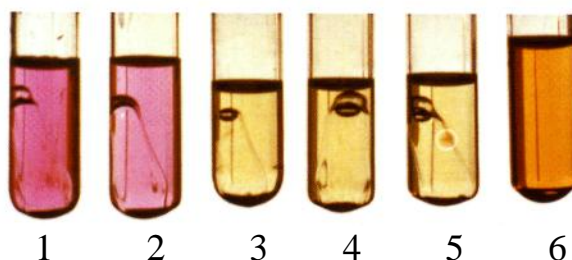


Рисунок 10 - Биохимическая активность *S. flexneri*: 1 - глюкоза; 2 - маннит; 3 - лактоза; 4 - сахароза; 5 - дульцит; 6 - мочевина.

Указанные биохимические свойства шигелл изучают на дифференциально-диагностических средах. В частности, **среда Клиглера** позволяет определять способность ферментировать глюкозу и лактозу, а также образовывать сероводород. Среда имеет исходный малиновый цвет. При посеве чистой культуры шигелл на поверхность скошенного агара и вглубь столбика наблюдается пожелтение столбика среды (ферментация глюкозы), исходный малиновый цвет “язычка” скошенного агара (отсутствие разложения лактозы). Так как шигеллы не продуцируют сероводорода, то среда не чернеет (рисунок 11).

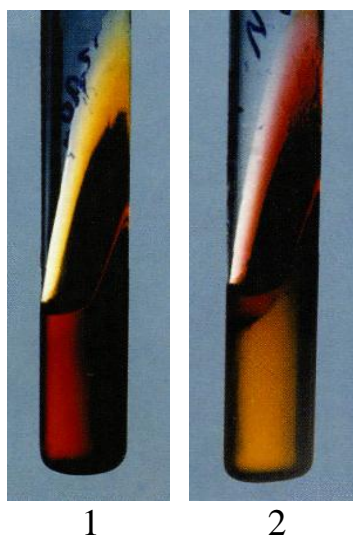


Рисунок 11 - Рост шигелл на среде Клиглера: 1 – контроль; 2 – *S. sonnei*.

Двухсахарный агар (**среда Ресселя**) также позволяет изучать ферментацию лактозы и глюкозы. Среда имеет исходный зеленый цвет. Ферментация глюкозы и отсутствие разложения лактозы проявляется тем, что столбик агара приобретает желтый цвет, а “язычок” среды становится синим. Трехсахарный агар (**среда Олькеницкого**) предназначена для определения ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы и выявления уреазы. Готовая среда имеет красный цвет. Ферментация глюкозы и отсутствие разложения лактозы и сахарозы проявляется изменением цвета столбика среды на желтый с сохранением красного цвета “язычка” среды. Отсутствие черного преципитата указывает на то, что шигеллы не продуцируют сероводород. Утилизацию цитрата определяют на **среде Симмонса**. Готовая среда имеет травянисто-зеленую окраску. Шигеллы не утилизируют цитрат (рост отсутствует), поэтому цвет среды не изменяется. Реакцию с метиловым красным проводят, выращивая культуру на **среде Кларка**. Положительная реакция проявляется красным окрашиванием среды при добавлении к культуре индикатора.

При исследовании биохимических свойств необходимо помнить, что некоторые представители *S. flexneri* расщепляют глюкозу до кислоты и газа, а *S. sonnei* способна медленно (в течение 72 часов) ферментировать лактозу. Среди шигелл встречаются как ферментирующие маннит виды (*S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. boydii*), так и виды, не ферментирующие маннит (*S. dysenteriae*).

Резистентность

Шигеллы обладают не очень высокой устойчивостью к неблагоприятным воздействиям химических и физических факторов. Во внешней среде и на предметах обихода шигеллы способны выживать от нескольких дней до нескольких месяцев. Они хорошо переносят высушивание, низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и при нагревании. Прямые солнечные лучи убивают бактерии через 30 минут. При температуре 60°C шигеллы погибают через 30 минут, при 100°C - мгновенно. На хлопчатобумажной ткани они выживают в течение 30-36 дней. В пробах фекалий шигеллы сохраняются не более 6-10 часов, в высохших испражнениях – до 4-5 месяцев.

Благоприятной средой для шигелл являются пищевые продукты. На фруктах и овощах шигеллы выживают до 2 недель. Наиболее устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов являются клетки *S. sonnei*. Они выживают в воде до 2 месяцев, а в почве – до 3 месяцев. В молоке и молочных продуктах *S. sonnei* способны не только длительно выживать, но и размножаться. Дезинфицирующие средства (гипохлориты, хлорамин, лизол и др.) в обычных концентрациях обладают бактерицидным действием. К большинству антибиотиков шигеллы чувствительны. Однако очень часто шигеллы становятся устойчивыми к лекарственным препаратам в результате передачи им генов трансмиссивных плазмид от других кишечных бактерий. У отдельных штаммов шигелл формируется при этом множественная лекарственная устойчивость. Такие возбудители дизентерии вызывают массовые заболевания в виде крупных эпидемий с тяжелым течением болезни.

В течение 2-3 дней шигеллы сохраняют жизнеспособность в кишечнике и на

поверхности тела мух. Поэтому доступ этих насекомых к нечистотам и пищевым продуктам может играть определенную роль в распространении дизентерии.

Антигенная структура

Шигеллы обладают соматическим термостабильным О-антигеном и термолабильным К-антигеном. Соматический О-антиген представляет собой липополисахарид клеточной стенки и является групповым. В зависимости от строения О-антигена шигеллы подразделяются на серотипы. Внутри серотипов выделяют подтипы. Серотипы обозначаются арабскими цифрами, а подтипы - арабскими цифрами с добавлением строчных латинских букв.

К-антигены маскируют О-антигены и препятствуют агглютинации бактерий О-антисыворотками. К-антигены отсутствуют у шигелл Зонне и Флекснера.

Факторы патогенности шигелл и патогенез шигеллезов

Основные факторы патогенности шигелл:

- эндотоксин - липополисахаридный комплекс;
- экзотоксины (цитотоксин или токсин Шига, термостабильный и термолабильный энтеротоксины);
- белки наружной мембраны;
- факторы персистенции;
- ферменты агрессии (гиалуронидаза, фибринолизин, плазмокоагулаза, нейраминидаза, муциназа);
- структурные компоненты клетки (микрокапсула, пили).

Патогенность наиболее выражена у *S. dysenteriae* серовара 1 (бактерии Григорьева-Шига), меньше у *S. flexneri* и еще меньше у других видов шигелл. Гены, кодирующие патогенность шигелл, располагаются в хромосомах и плазмидах:

Эндотоксин выделяется при разрушении микробных клеток, обуславливает развитие интоксикационного синдрома. Он защищает также бактерии от действия кислой среды желудка и желчи.

Цитотоксин повреждает мембраны эпителиальных клеток. *S. dysenteriae* серовара 1 продуцирует белковый токсин Шига (SLT-1), остальные шигеллы продуцируют шигаподобные токсины (SLT-2). Токсин Шига кодируется хромосомным геном *stx*. Эти токсины состоят из субъединиц А и В. Субъединица В связывается с гликолипидом Gb3 мембраны клетки, а затем субъединица А проникает внутрь клетки и блокирует синтез белка на рибосомах (цитотоксическое действие). Кроме цитотоксичности токсин Шига оказывает энтеротоксическое, нейротоксическое и нефротоксическое действие, что проявляется нарушением водно-солевого обмена, деятельности ЦНС, гибелью эпителиальных клеток толстого кишечника и поражением почечных канальцев.

Энтеротоксины ShET-1 и ShET-2 усиливают секрецию жидкости и солей в

просвет кишечника, обуславливая диарею. Синтез токсина ShET-1 кодируется хромосомными генами. Его продуцирует только *S. flexneri* серотипа 2a. Синтез токсина ShET-2 кодируют плазмидные гены, его синтезируют другие виды шигелл.

Пили и белки наружной мембраны способствуют адгезии бактерий на эпителиальных клетках и их инвазии в клетки эпителия. Адгезии и колонизации способствуют бактериальные ферменты, разрушающие слизь - **нейраминидаза, гиалуронидаза, муциназа**. Способность к инвазии и межклеточному распространению связана с наличием у шигелл крупной плазмиды. Эта плазида детерминирует синтез **іра-инвазинов** (invasion plasmide antigen) - белков, входящих в состав наружной мембраны.

Факторы персистенции способствуют внутриклеточному размножению шигелл и их межклеточному распространению шигелл. Эти факторы представляют собой белки, вызывающие лизис мембран эпителиальных клеток. Внутриклеточному паразитированию способствуют также антилизозимная, антиинтерфероновая и антииммуноглобулиновая активность шигелл.

Шигеллы, проникнув в организм через рот, частично разрушаются в желудке с высвобождением эндотоксина. Оставшиеся в живых бактерии проникают в тонкий кишечник, где находятся в течение нескольких суток. В тонкой кишке шигеллы прикрепляются к энтероцитам и секретируют энтеротоксины, вызывающие повышенную секрецию жидкости и солей в просвет кишки.

Однако основной патологический процесс при шигеллезах развивается в дистальном отделе толстого кишечника – в сигмовидной и прямой кишке (рисунок 12).

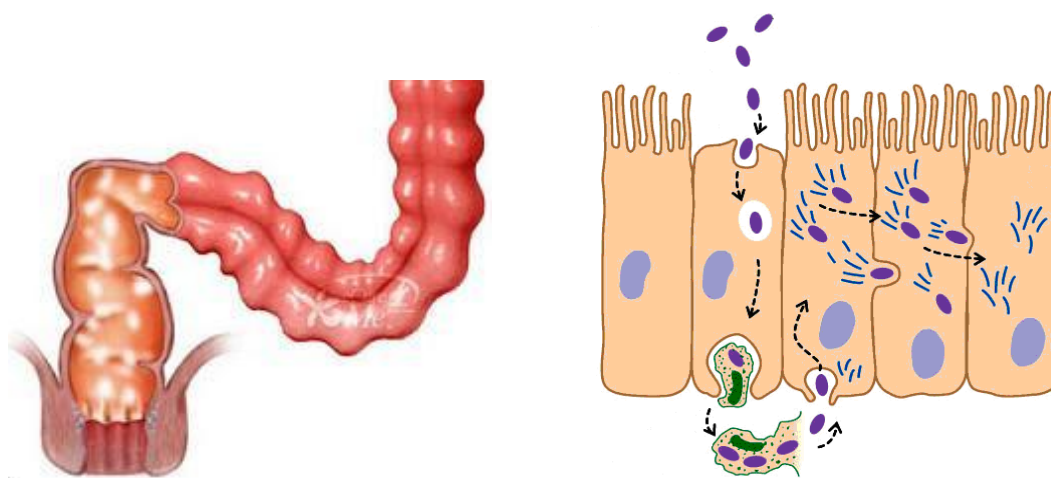


Рисунок 12 – Локализация патологического процесса и схема патогенеза дизентерии.

Шигеллы, проникнув в толстый кишечник, колонизируют слизистую оболочку. Этому способствуют пили, микрокапсула, ферменты агрессии шигелл (муциназа, нейраминидаза, гиалуронидаза). С помощью іра-белков (инвазинов) шигеллы прикрепляются к М-клеткам и проникают в них путем эндоцитоза. В составе вакуоли шигеллы транспортируются через М-клетку, достигают подслизистой кишечника и поглощаются макрофагами. Внутри макрофагов происходит размножение шигелл (рисунок 13).

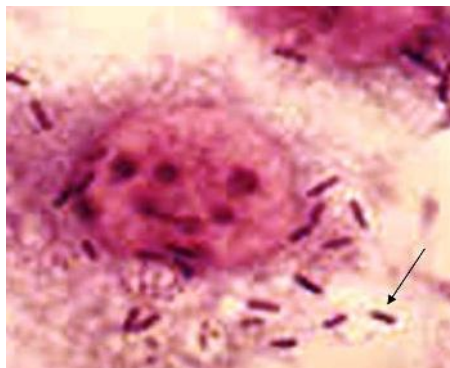


Рисунок 13 - Внутриклеточное расположение шигелл.

Активное размножение возбудителя в макрофагах сопровождается выделением цитотоксинов (токсина Шига или шигаподобных токсинов), вызывающих воспалительный процесс в подслизистом слое. После гибели макрофагов шигеллы проникают через базальную мембрану в энтероциты. Размножающиеся внутри энтероцитов бактерии распространяются на соседние эпителиальные клетки через пальцеобразные выросты клеточной поверхности. Эти выросты “фагоцитируются” соседними клетками, поэтому шигеллы достигают цитоплазмы новых клеток, не выходя во внеклеточное пространство. Продвижению возбудителя из клетки в клетку способствует то, что при внутриклеточном перемещении на одном из полюсов клетки формируют хвост из коротких пучков актина, который в качестве псевдожгутика проталкивает бактерии в соседние клетки (рисунок 14).

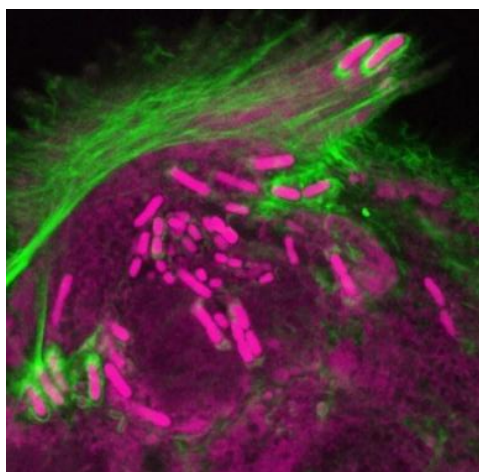


Рисунок 14 - Межклеточное перемещение шигелл (клетки розового цвета) с помощью псевдожгутиков (нити зеленого цвета).

Внутриклеточное размножение бактерий и выделение токсина Шига или шигаподобных токсинов приводит к гибели клеток. В месте поражения развивается отек, катаральное или фиброзно-некротическое воспаление, образуются эрозии и язвы (рисунок 15). В результате этого в испражнениях появляются слизь, кровь, гной.



Рисунок 15 – Образование язвы слизистой оболочки при дизентерии.

Гибель шигелл приводит к выделению эндотоксина и поступлению его в кровь (эндотоксинемия). Эндотоксин вызывает интоксикацию, усиление перистальтики кишечника, понос. Бактериемии при шигеллезах не наблюдается. Патологический процесс ограничивается кишечником.

При хронической дизентерии ведущая роль принадлежит не интоксикации, а прогрессирующему нарушению функций желудочно-кишечного тракта.

Выздоровление при дизентерии в основном сопровождается освобождением организма от возбудителя. Однако у части больных очищение организма от бактерий затягивается до 1 месяца и более (реконвалесцентное носительство), а иногда болезнь приобретает хроническое течение.

Эпидемиология

Шигеллез является **антропонозной инфекцией с фекально-оральным механизмом** передачи. Заболевание, вызываемое *S. dysenteriae*, имеет **контактно-бытовой** путь передачи возбудителя, *S. flexneri* - **водный**, а *S. sonnei* - **алиментарный**. Восприимчивость людей высокая. Заболевания распространены повсеместно, чаще всего проявляются в виде вспышек алиментарного или водного характера. Для бактериальной дизентерии характерна летне-осенняя сезонность. Инфицирующая доза при шигеллезе составляет 200-300 микробных клеток.

Источник инфекции – **больные** лица с острой, хронической или субклинической формами болезни и **бактерионосители**. Они выделяют возбудителя во внешнюю среду с фекалиями. Особую опасность представляют больные и бактерионосители из числа работников питания и водоснабжения. Больные дизентерией заразны с начала болезни, а иногда – с конца инкубационного периода. Длительность выделения возбудителя больными составляет 1 неделю, иногда затягивается до 2-3 недель. **Факторы передачи** – зараженная пища, вода, руки и другие объекты.

В основном во многих странах выявляются шигеллы Зонне и Флекснера. Распространению шигеллезов способствует низкий уровень жизни, антисанитарные жилищные условия.

Клиника

Выделяют следующие формы и варианты течения болезни:

1. Острая дизентерия (колитический и гастроэнтероколитический варианты).

По тяжести течения выделяют легкие, среднетяжелые и тяжелые формы.

2. Хроническая дизентерия (рецидивирующая и непрерывная).

3. Бактерионосительство (реконвалесцентное и транзиторное).

Основным клиническим проявлением заболевания является колитический вариант. Инкубационный период составляет от 1 до 7 дней (в среднем - 2-3 дня). Начало заболевания острое и связано с развитием синдрома общей интоксикации. Температура тела повышается до 38-39⁰С. Отмечается озноб, головная боль, чувство разбитости, тошнота, рвота, режущие схваткообразные боли в животе. Вначале боли носят разлитой характер, а затем локализуются в левой подвздошной области (рисунок 16).

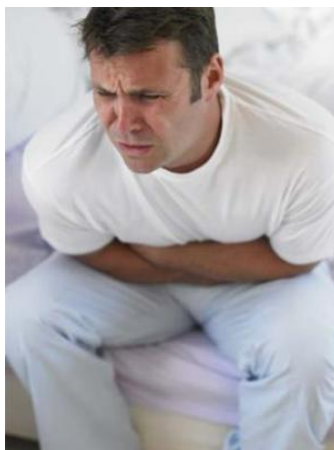


Рисунок 16 - Схваткообразные боли при дизентерии.

У больного отмечается частый жидкий стул. Первоначально частота стула достигает 10 раз в сутки и более. Со временем стул становится редким и скудным с примесью слизи, крови и гноя (рисунок 17).

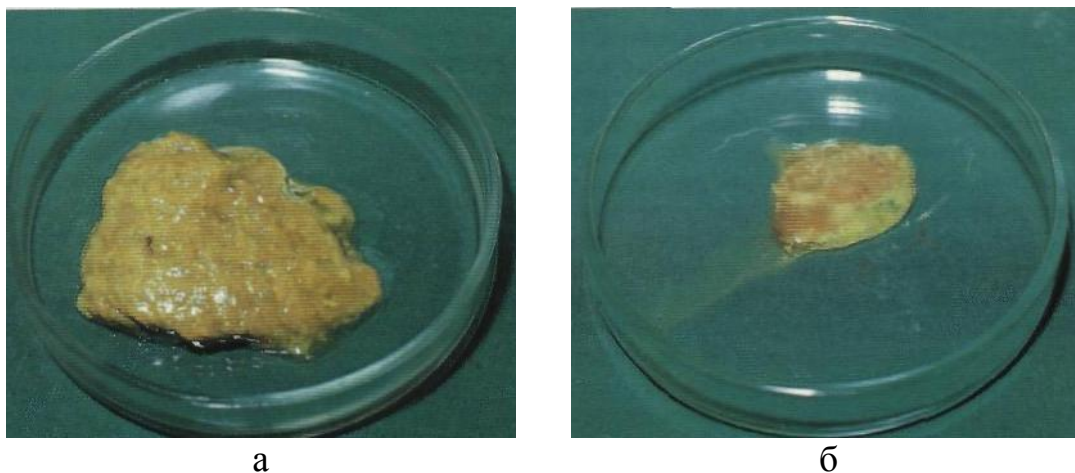


Рисунок 17 - Кал с примесью слизи (а) и с примесью слизи с прожилками крови (б).

Дефекация, как правило, не приносит облегчения. Характерно при дефекации выделение небольшого количества слизи с прожилками крови (“ректальный плевок”). Дефекация сопровождается тенезмами (мучительными тянущими болями в прямой кишке). Период разгара болезни продолжается от 1 до 9 дней. Полное выздоровление наступает через 3-6 недель.

Острая форма заболевания примерно в 3% случаев переходит в хроническую инфекцию. Развитию хронической формы заболевания способствует внутриклеточный паразитизм шигелл. Примерно в 2% случаев после острой формы заболевания формируется длительное бактерионосительство. Осложнениями шигеллезом являются дисбактериоз, кишечные кровотечения, прободение стенки кишечника. Летальность при бактериальной дизентерии в настоящее время достигает 0,3-1%. Наиболее тяжело протекает шигеллез, вызванный *S. dysenteriae* серовара 1. *S. sonnei* вызывает заболевание в легкой форме, часто в виде бактерионосительства.

Выделение шигелл у лиц, перенесших острую дизентерию, в течение 3 месяцев при отсутствии симптомов болезни и при нормальных результатах ректороманоскопии называется **реконвалесцентным бактерионосительством**. **Транзиторное бактерионосительство** – это однократное выделение шигелл практически здоровыми лицами, не болевшими дизентерией и не имевшими дисфункций кишечника на протяжении 3 месяцев.

Иммунитет

В защите от инфекции основная роль принадлежит факторам местного иммунитета слизистой кишечника: секреторным IgA, Т-лимфоцитам, нейтрофилам. Эти факторы препятствуют адгезии шигелл на энтероцитах и способствуют их уничтожению. Исследования последних лет показали, что нейтрофилы “выбрасывают” сетевидные образования, в которых задерживаются и погибают микроорганизмы. Эти новые структуры получили название нейтрофильных экстрацеллюлярных ловушек - НЭЛ (рисунок 18).

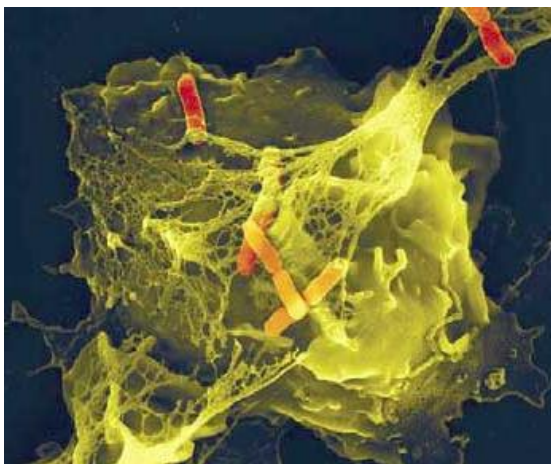


Рисунок 18 - Стимулированный нейтрофил с НЭЛ и “захваченными” шигеллами.

После перенесенного заболевания формируется непродолжительный видо- и типоспецифический иммунитет. Возможны повторные заболевания.

Диагностика

Лабораторная диагностика шигеллезов включает следующие методы:

1. Экспресс-методы - РНГА, РКоА, РИФ.
2. Бактериологический метод:
 - посев на среды Плоскирева, Левина, Эндо;
 - выделение чистой культуры (пересев типичных колоний на среду Олькеницкого, агар Клиглера, цитратный агар Симмонса, среду Кларка);
 - изучение свойств культуры (окраска по Граму, ферментативные свойства, антибиотикограмма, чувствительность к фагу).
3. Серологические методы (РА, РНГА).

Основным методом диагностики является бактериологический, который позволяет выделить чистую культуру возбудителя (копрокультуру) и изучить ее свойства.

Материалом для исследования служат испражнения, пищевые продукты, иногда – рвотные массы. Для исследования из средней порции кала отбирают стеклянной палочкой слизисто-гнойные образования. Фекалии можно отбирать непосредственно из прямой кишки с помощью ватного тампона или специальных ректальных трубок Цимана (рисунок 19).

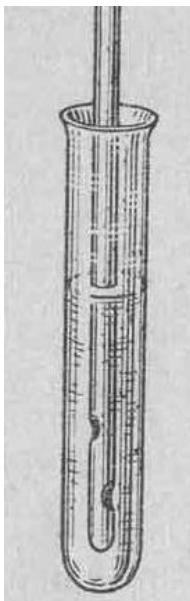


Рисунок 19 – Стерильная пробирка с консервирующей жидкостью и ректальной трубкой.

Слизь (гной) из мест поражения слизистой оболочки можно получать непосредственно во время колоноскопии.

Для отбора эпителиальных клеток используют петлю, которую вводят в прямую кишку на 10-20 см. Полученный соскоб со слизистой оболочки прямой кишки помещают в среду 199 с лизоцимом и инкубируют в термостате при 37°C в течение 3-6 часов, после чего центрифугат высевают на питательные среды. Посуду, используемую для отбора материала, не обрабатывают дезинфицирующими растворами, так как шигеллы чувствительны ко многим дезсредствам.

В первый день отобранный материал непосредственно у постели больного высевают в среду обогащения (селенитовый бульон) и в чашки Петри на лактозосодержащие дифференциальные плотные питательные среды (Плоскирева, Левина, Эндо). При невозможности посева материала на дифференциальные среды в течение первых двух часов используют консервант (глицериновая смесь, буферный раствор фосфорнокислых солей, желчный бульон, селенитовый бульон). Для посева используют слизисто-гнойные комочки испражнений.

На второй день среди выросших колоний отбирают мелкие прозрачные бесцветные колонии, которые микроскопируют, исследуют на подвижность и пересевают на среду Олькеницкого для выделения чистой культуры. При наличии типичных колоний проводят ориентировочную реакцию агглютинации на стекле со смесью сывороток Флекснера и Зонне.

На третий день учитывают характер роста культуры на среде Олькеницкого (столбик агара желтого цвета, скошенная часть агара не изменена, почернение отсутствует) и полученную чистую культуру исследуют по биохимическим свойствам (посев в среды Гисса).

На четвертый день учитывают результаты изучения биохимических свойств выделенной культуры.

Для изучения биохимической активности применяют также энтеротесты или энтеротубы. В частности, набор ЭНТЕРОтест 24 представляет собой пластмассовые

пластинки с ячейками, содержащими высушенные питательные среды и субстраты для 24 тестов (рисунок 20).

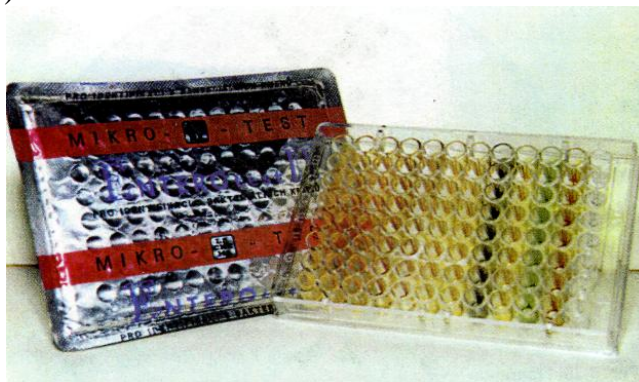


Рисунок 20 - Энтеротест.

Тест-система Enterotube-II (рисунок 21) представляет собой прозрачную пластиковую трубку с отдельными отсеками, заполненными специальными средами.



Рисунок 21 - Тест-система Enterotube-II.

Выделенные культуры шигелл идентифицируют до вида и серовара, культуры *S. flexneri* - до подтипов, а культуры *S. sonnei* - до хемоваров. В таблице 2 представлены биохимические свойства шигелл.

Таблица 2 – Биохимические свойства шигелл

Вид	Ферментация углеводов						Индол	Каталаза
	лактоза	глюкоза	мальтоза	маннит	дульцит	сахароза		
<i>S. dysenteriae</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexneri</i>	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>S. boydii</i>	-	+	±	+	+	-	+	-
<i>S. sonnei</i>	+	+	+	+	-	+	-	+
	медленно					медленно		

Для установления видовой принадлежности возбудителя используют реакцию агглютинации (РА) на стекле, которую сначала ставят с видовыми сыворотками Зонне и Флекснера, и при выделении палочки Флекснера – с типовыми

сыворотками. Для этого используют поливалентные и моновалентные диагностические агглютинирующие сыворотки.

Для быстрого обнаружения шигелл в исследуемом материале применяют **РНГА, ПЦР, ИФА**.

Реакцию коаггутинации (**РКоА**) используют для определения вида шигелл. Эту реакцию можно проводить уже на второй день исследования при наличии на среде достаточного количества лактозонегативных колоний. С этой целью на типичную колонию наносят каплю протеина А стафилококка, сенсibilизированного антителами против шигелл. Чашку осторожно покачивают и через 15 минут под микроскопом наблюдают появление агглютината.

Реакция иммунофлюоресценции (**РИФ**) может быть использована как для обнаружения возбудителя в фекалиях, так и для идентификации чистой культуры (рисунок 22).

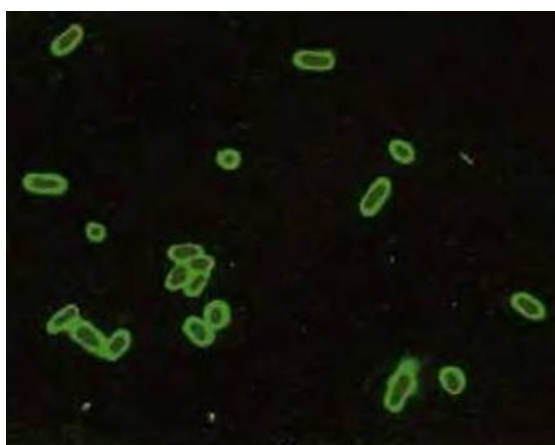


Рисунок 22 - РИФ с культурой *S. flexneri*.

Для эпидемиологических целей проводят колициногенотипирование, колицинотипирование, фаготипирование, определение плазмидного профиля. Колициногенотипирование направлено на определение способности синтезировать специфические колицины с помощью наборов типовых и индикаторных штаммов шигелл. Колицинотипирование – это определение чувствительности шигелл к известным колицинам. Для этих целей используют набор эталонных колициногенных штаммов.

Вспомогательное диагностическое значение имеет внутрикожная **аллергическая проба** с дизентерином Цуверкалова (раствор белковых фракций шигелл Флекснера и Зонне). Реакцию учитывают через 24 часа после введения препарата. Она становится положительной с 4 дня болезни. При наличии гиперемии и инфильтрата диаметром 35 мм реакция считается сильно выраженной, при 20-34 мм – умеренной, при 10-15 мм - сомнительной. В настоящее время эта реакция практически не используется.

Для установления принадлежности выделенных культур к роду шигелл и для оценки инвазивных свойств выделенных культур используют **кератоконъюнктивальную пробу** на морских свинках: введение в конъюнктивальный мешок небольшого количества агаровой или бульонной культуры приводит к развитию через 2-5 суток серозно-гнойного

кератоконъюнктивита.

В диагностике шигеллезов применяют инструментальные методы, в частности **ректороманоскопию**. Патологоанатомические изменения при дизентерии наиболее выражены в дистальном отделе толстой кишки. В начале заболевания на слизистой оболочке толстой кишки обнаруживается острое катаральное воспаление, затем – фибринозно-некротическое воспаление, переходящее в стадию образования язв. Язвы при дизентерии чаще всего поверхностные. Заживление язв протекает очень медленно

Лечение

Для лечения используют бактериофаг, антибиотики после определения антибиотикограммы; в случае возникновения дисбактериоза - препараты пробиотиков для коррекции микрофлоры кишечника.

Бактериофаг дизентерийный поливалентный (Дизфаг) выпускается в жидком виде, таблетках с кислотоустойчивым покрытием, свечах. Он представляет собой стерильный фильтрат фаголизатов *S. flexneri* типов 1, 2, 3, 4 и 6 и *S. sonnei*. Применяется внутрь или ректально для лечения больных бактериальной дизентерией (с 6-месячного возраста), санации реконвалесцентов (бактерионосителей) и профилактики шигеллеза (рисунок 23).

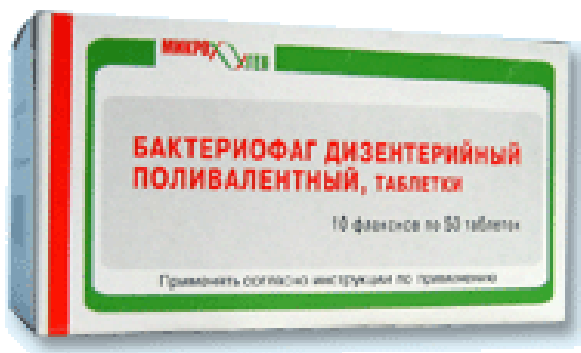


Рисунок 23 - Дизентерийный поливалентный бактериофаг.

В легких случаях назначают симптоматическое лечение (восстановление водного баланса), в тяжелых случаях – антибиотики. Обязательно учитывают антибиотикограммы выделенных культур. Наиболее эффективными антибиотиками являются фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин), ампициллин, тетрациклины, цефалоспорины, аминогликозиды (гентамицин, сизомицин, тобрамицин, амикацин), препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин, фурагин), комбинированные сульфаниламиды, в частности котримоксазол (рисунок 24).



Рисунок 24 - Антибактериальные препараты для лечения дизентерии.

Для лечения хронических форм дизентерии вне обострения в прошлом широко использовалась **вакцина Чернохвостова**, представляющую собой инактивированные этиловым спиртом шигеллы. Вводится подкожно в подлопаточную область. Для этих же целей применялась и энтеральная живая вакцина (**иммуноген**). Лечебное действие вакцины заключается в усилении иммуногенеза и десенсибилизации. В настоящее время эти препараты практически не используются.

Для коррекции дисбиотических нарушений используют пробиотические препараты (бифидобактерин, колибактерин, бификол, бактисубтил и др.).

Госпитализации подлежат лица с тяжелым течением, люди пожилого возраста, дети до 1 года, лица с тяжелыми сопутствующими заболеваниями. Выписка больного из стационара осуществляется после трехкратного отрицательного результата бактериологического исследования.

Профилактика

Плановая специфическая профилактика при шигеллезах не проводится. По эпидемическим показаниям (работа в баклабораториях, в сфере общественного питания, выезд в регионы с высоким уровнем заболеваемости дизентерией Зонне) используется вакцина **Шигеллвак**, представляющая собой раствор липополисахарида, извлеченного из культуры *S. sonnei* и очищенный физико-химическими методами. Через 2-3 недели после введения вакцина обеспечивает невосприимчивость к инфекции в течение 1 года. Вакцина вводится подкожно или внутримышечно однократно. Возможна ежегодная ревакцинация (рисунок 25).



Рисунок 25 - Вакцина Шигеллвак.

Для экстренной профилактики дизентерии в очагах инфекции применяют дизентерийный бактериофаг.

Неспецифическая профилактика предусматривает раннее выявление больных и бактерионосителей, соблюдение санитарно-гигиенических правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов, контроль за качеством питьевой воды, соблюдение правил личной гигиены, санитарно-просветительную работу среди населения.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Классификация шигелл.
2. Морфологические, тинкториальные, культуральные и биохимические признаки шигелл.
3. Антигенная структура шигелл.
4. Эпидемиология бактериальной дизентерии.
5. Патогенез шигеллезов.
6. Клиническая картина бактериальной дизентерии.
7. Лабораторная диагностика шигеллезов.
8. Препараты для профилактики и терапии шигеллезов.

Тренировочные тесты

1. Возбудители бактериальной дизентерии относятся к роду, названному в честь:
 - А. Шантемесса
 - + К. Шига
 - С. Флекснера
 - Т. Эшериха
 - К. Зонне
2. Возбудители бактериальной дизентерии относятся к роду:
 - *Escherichia*
 - + *Shigella*
 - *Salmonella*
 - *Yersinia*
 - *Klebsiella*
3. По международной классификации род шигелл включает виды:
 - + *S. dysenteriae*
 - + *S. flexneri*
 - + *S. boydii*
 - + *S. sonnei*
 - *S. newcastle*

4. К возбудителям бактериальной дизентерии относятся:

- + *S. dysenteriae*
- + *S. flexneri*
- *S. typhi*
- *S. paratyphi*
- + *S. boydii*

5. *Shigella flexneri* вызывает:

- брюшной тиф
- паратиф
- + дизентерию
- сальмонеллез
- чуму

6. Наиболее вирулентной для человека является:

- + *S. dysenteriae*
- *S. flexneri* серотип 1
- *S. flexneri* серотип 4
- *S. boydii*
- *S. sonnei*

7. Селективной для выделения шигелл является среда:

- МПА
- висмут-сульфитный агар
- + Плоскирева
- Вильсона-Блера
- Эйкмана

8. Колонии, подозрительные на шигеллезные:

- проявляют оксидазную активность
- + не проявляют оксидазной активности
- окрашены в желтый цвет
- образуют слизистый налет на поверхности среды
- + лактозонегативные на среде Эндо

9. Для выделения шигелл из фекалий используют питательные среды:

- + Эндо
- висмут-сульфитный агар
- + Плоскирева
- пептонная вода
- Раппопорта

10. Возбудители бактериальной дизентерии:

- строгие анаэробы
- микроаэрофилы

- термофилы
- + не требовательны к питательным средам
- нуждаются в дополнительных факторах роста

11. Для шигелл характерно:

- + отсутствие подвижности
- образование спор
- наличие жгутиков
- образование сероводорода
- гидролиз очевины

12. Шигеллы относятся к:

- представителям нормальной микрофлоры кишечника
- условно-патогенным микроорганизмам
- + патогенным микроорганизмам
- сапрофитам
- + возбудителям кишечных инфекций

13. Для бактериальной дизентерии характерно:

- зоонозная инфекция
- + кишечная инфекция
- воздушно-капельная инфекция
- природно-очаговая инфекция
- + регистрируется во всех возрастных группах

14. К факторам патогенности шигелл относятся:

- жгутики
- + белки наружной мембраны
- + пили
- эритрогенный токсин
- + эндотоксин

15. Источниками инфекции при бактериальной дизентерии являются:

- дикие животные
- + больные с острыми формами
- + больные с хроническими формами
- + бактерионосители
- домашние животные

16. Источником инфекции при шигеллезе являются:

- + больные люди
- домашние животные
- дикие животные
- домашние птицы
- синантропные грызуны

17. Пути передачи при бактериальной дизентерии:

- воздушно-пылевой
- + алиментарный
- + контактный
- трансплацентарный
- половой

18. Инфицирование шигеллами происходит при:

- переливании крови
- + несоблюдении правил личной гигиены
- + употреблении в пищу некачественной воды
- ранениях кожи
- введении лекарственных препаратов

19. Наиболее частый путь инфицирования шигеллами Флекснера:

- контактный
- + водный
- пищевой
- половой
- трансплацентарный

20. Наиболее частый путь инфицирования шигеллами Зонне:

- + пищевой
- водный
- контактный
- шприцевой
- трансмиссивный

21. Для патогенеза бактериальной дизентерии характерно:

- образование карбункула
- + язвенно-дифтеритическое воспаление слизистой толстой кишки
- + формирование бактерионосительства
- + внутриклеточное размножение
- бактериемия

22. Возбудитель дизентерии в организме больного:

- поражает слизистую желудка
- поражает слизистую тонкого кишечника
- + находится внутри эпителия толстого кишечника
- + поражает слизистую толстого кишечника
- циркулирует в крови

23. Патологический процесс при шигеллезах локализуется в:

- тонком кишечнике
- + толстом кишечнике
- желудке

- паренхиматозных органах
- лимфоузлах средостения

24. Возбудитель дизентерии в организме больного:

- проникают через слизистую тонкого кишечника
- разносятся с кровотоком в паренхиматозные органы
- + образуют язвы на слизистой толстого кишечника
- проникают в кровь
- поражают печень

25. После переболевания при бактериальной дизентерии развивается иммунитет:

- пожизненный
- + непродолжительный
- нестерильный
- + видоспецифический
- + типоспецифический

26. Исследуемый материал при бактериологической диагностике бактериальной дизентерии:

- ликвор
- кровь
- моча
- + кал
- желчь

27. Основной метод микробиологической диагностики шигеллез:

- бактериоскопический
- биологический
- + бактериологический
- серологический
- аллергический

28. Для постановки кожно-аллергической пробы при шигеллезе используют:

- бруцеллин
- антраксин
- тулярин
- + дизентерин
- эндотоксин

29. Дизентерин вводят:

- накожно
- + внутрикожно
- подкожно
- внутримышечно
- внутривенно

30. Положительная кератоконъюнктивальная проба с шигеллами обусловлена:

- синтезом энтеротоксина
- + наличием у шигелл инвазина
- наличием эндотоксина
- наличием пилей
- + способностью к внутриклеточному размножению

31. Специфическую профилактику бактериальной дизентерии в очаге осуществляют с помощью:

- вакцинации
- антибиотиков
- + бактериофага
- пробиотиков
- витаминов

32. К мерам неспецифической профилактики бактериальной дизентерии относятся:

- вакцинация
- прием антибиотиков
- + соблюдение личной гигиены
- прием сульфаниламидов
- использование бактериофага

33. Лечение бактериальной дизентерии проводят с помощью:

- убитой вакцины
- + антибиотиков
- физиотерапевтических процедур
- + пробиотиков
- + специфического бактериофага

Приложение

Лечебно-профилактические препараты:

1. **Дизентерийный иммуноген** (химическая вакцина). Содержит антигены, извлеченные химическим путем из палочек Флекснера и Зонне. Применяется в комбинации с антибиотиками для лечения больных хронической дизентерией и санации бактерионосителей.

2. **Спиртовая дизентерийная вакцина**. Содержит палочки Флекснера и Зонне, убитые спиртом. Применяется для лечения больных хронической дизентерией.

3. **Бактериофаг дизентерийный** поливалентный жидкий, в таблетках с кислотоустойчивым покрытием и в свечах. Представляет собой стерильный фильтрат фаголизатов шигелл Флекснера типов 1, 2, 3, 4, 6 и шигелл Зонне. Для производства таблеток и свечей фильтрат лиофилизуется и прессуется в таблетки или формируется в свечи. Применяют для экстренной профилактики и лечения

острой дизентерии, санации реконвалесцентов. Одновременно с пероральным применением жидкий препарат можно вводить ректально в виде клизм.

Для лечения дизентерии препарат назначается с первого дня заболевания в течение 5-7 суток детям с 6-месячного возраста и взрослым. Для профилактики препарат используется среди детей и обслуживающего персонала в дошкольных учреждениях во время сезонного подъема заболеваемости, во время групповых заболеваний в организованных коллективах и семьях. Реакции на применение препарата отсутствуют. Противопоказаний для применения препарата нет.

4. Интести-бактериофаг жидкий – смесь стерильных фильтратов фаголизатов шигелл Флекснера сероваров 1, 2, 3, 4, 6, шигелл Зонне; сальмонелл паратифа А, паратифа В, тифимуриум, инфантис, холерасуис, ораниенбург, энтеритидис; наиболее распространенных серовариантов кишечной палочки (018, 020, 026, 076, 0111, 0114, 0128, 0142, 0144, 0154); протеус вульгарис и мирабилис; энтерококков; стафилококков; псевдомонас аеругиноза. Применяется для лечения кишечных инфекций: дизентерии, сальмонеллеза, диспепсии, колита, энтероколита.

Препарат применяется с первого дня заболевания в течение 5-6 дней детям и взрослым. Возможно применять препарат ректально в виде клизм. Реакции на применение препарата отсутствуют. Противопоказаний для применения препарата нет.

Диагностические препараты:

1. Сыворотки диагностические шигеллезные адсорбированные агглютинирующие сухие предназначены для идентификации шигелл в реакции агглютинации (РА). Представляют собой лиофилизированные сыворотки кроликов, иммунизированных определенными видами шигелл. Выпускаются как моновалентные, так и поливалентные сыворотки. С их помощью можно определить любые бактерии рода *Shigella* согласно Международной классификации.

2. Диагностикумы эритроцитарные шигеллезные представляют собой формализированные эритроциты барана, нагруженные (сенсibilизированные) антигенами шигелл (*S. flexneri* 1-5, 6; *S. sonnei*, *S. dysenteriae* 1, 2, 3-7). Они предназначены для серологической диагностики острой дизентерии, вызванной отдельными видами шигелл. Их применяют в реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА). Эритроцитарные диагностикумы выпускаются в жидком и сухом виде.

3. Иммуноглобулины шигеллезные к антигенам Зонне и Флекснера 1-5 диагностические флюоресцирующие сухие. Применяются при диагностике дизентерии в РИФ.

4. Тест-система иммуноферментная для выявления О-антигена шигелл Зонне (Шигеллапаст).

5. Дизентерин Цуверкалова представляет собой гидролизат дизентерийных бактерий Флекснера или Зонне. Применяется в качестве аллергена при диагностике дизентерии.

Список литературы

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: М: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2002. – 736 с.
3. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А.А. Воробьев, Ю.С. Кривошеин, В.П. Ширококов. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр “Академия”, 2006. – 464 с.
4. Воробьев А.А., Быков А.С., Пашков Е.П., Рыбаков А.М. Микробиология: Учебник. – 2-е изд., перераб. И доп. – М.: Медицина, 1998. – 336 с.: ил.
5. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для мед. вузов. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 591 с.: ил.
6. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2006. – 704 с.; ил., табл.
7. Медицинская микробиология / Под ред. В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 768 с.
8. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 1 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 448 с.: ил.
9. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 2 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил.
10. Мотавкина Н.С., Артемкин В.Д. Атлас по микробиологии и вирусологии. М.: Медицина, 1976. – 307 с.: ил.
11. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред В.И. Покровского. – 3-е изд., стереотип. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 768 с.: ил.
12. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии / Под ред. Л.Б. Борисова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1984. – 256 с.
13. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии и лабораторной диагностике инфекционных болезней / Под ред. Ю.С. Кривошеина. – К.: Виша школа, Головное издательство, 1986. – 376 с.
14. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”, 2005. – 600 с.: ил.
15. Информационные ресурсы (WEB-ресурсы) по медицинской микробиологии и иммунологии (Интернет – сайты):
 - <http://www.microbiology.ru>
 - <http://ru.wikipedia.org>
 - <http://www.rusmedserv.com>

- www.yandex.ru
- www.Google.ru
- www.Rambler.ru

Иллюстрированное учебное пособие

Литусов Николай Васильевич

Шигеллы